

FT4 - Thyroxine libre (T4L)

Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170 

11731297

200 tests

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la thyroxine libre (T4L) dans le sérum et le plasma.

Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys) de Roche.

Tous les appareils ne sont pas disponibles dans tous les pays.

Généralités*^{1,2,3,4}

La thyroxine (T4) est une hormone qui participe à la régulation de l'activité de la glande thyroïde. La quasi totalité de cette thyroxine totale est fixée à des protéines de transport: Thyroid Binding Globulin (TBG), Thyroid Binding Prealbumin (TBPA) et albumine. L'hormone non liée ou T4 libre est la fraction physiologiquement active.

Le dosage de la thyroxine libre est aujourd'hui un élément essentiel du bilan d'exploration de la thyroïde. La T4L est déterminée parallèlement à la TSH, en cas de présomption d'un dysfonctionnement thyroïdien ou pour le suivi des patients sous traitement thyroïdo-suppresseur.

Le dosage de la T4 libre présente l'avantage de ne pas être influencé par des variations de concentration des protéines de transport ou de leur capacité de liaison, ce qui diminue l'intérêt du dosage de T-Uptake ou de la TBG.

Il existe plusieurs méthodes de détermination du taux des formes libres des hormones thyroïdiennes. Le dosage direct de la T3 ou T4 libre par dialyse à l'équilibre ou par ultrafiltration sont les méthodes de référence pour la standardisation des tests immunologiques généralement pratiqués en routine.

La mise en évidence de la thyroxine libre par le test FT4 Elecsys est réalisée à l'aide d'un anticorps anti-T4 marqué au ruthénium**. La quantité d'anticorps ajoutée est très faible (elle équivaut env. à 1 ou 2% du taux de T4 totale d'un sérum normal) et ne modifie pas l'équilibre T4 libre-T4 liée aux protéines de transport.

**Ru(bpy)₃²⁺ : Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Principe du dosage*

Principe de compétition. Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1^{ère} incubation : Une prise d'essai de 15 µl est mise en présence d'un anticorps anti-T4 marqué au ruthénium.
- 2^e incubation : La T4 marquée à la biotine et les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées. L'excès d'anticorps marqué au ruthénium capte la T4 marquée à la biotine, le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell.
- Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

Réactifs – Contenu du coffret et concentrations

Coffret FT4 Elecsys, Réf. 11731297 pour 200 tests :

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 12 ml (bouchon transparent) :
Microparticules tapissées de streptavidine, 0,72mg/ml, capacité de liaison : 470 ng de biotine/mg de microparticules; conservateur.
- R1 Anticorps anti-T4~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon contenant 18 ml (bouchon gris) :
anticorps polyclonaux de mouton anti-T4 marqués au ruthénium 50 ng/ml; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,0; conservateur.
- R2 T4~biotine, 1 flacon contenant 18 ml (bouchon noir) :
T4 biotinylée 2,5 ng/ml; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,0; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.

 L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*

Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.

Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons réactifs et sont lues automatiquement par l'appareil.

Conservation et stabilité*

Ranger le coffret FT4 Elecsys entre 2 et 8°C en **position verticale** de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Stabilité :

Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée

Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines

Sur E170 et Elecsys 2010 : huit semaines

Sur Elecsys 1010 : huit semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20–25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*

Seuls les échantillons suivants ont été testés:

Sérum, non dilué, recueilli sur tubes de prélèvement standard ou contenant un gel séparateur.

Plasma, non dilué, recueilli sur héparinate d'ammonium, de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, citrate de sodium, fluorure de sodium ou oxalate de potassium.

Critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110 % de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation > 0,95 + ordonnée à l'origine < ± 2 x limite de détection analytique.

Conservation : sept jours entre 2 et 8°C, 30 jours à -20°C.⁵ Ne congeler qu'une fois. Stabilité du sérum recueilli sur tubes contenant un gel séparateur : 48 heures entre 2 et 8°C (selon les indications données par le fabricant des tubes).⁶

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse. Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.

Ne pas utiliser d'échantillons ou de solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20–25°C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs. 

FT4 Elecsys - Réactifs et matériel nécessaires*

Contenu du coffret

Réf. 11731297, Coffret FT4 Elecsys pour 200 tests :

- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-T4~Ru(bpy)₃²⁺
- R2 T4~biotine

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires

- Réf. 11731661, FT4 CalSet Elecsys, 4 x 1 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecsys :
PreciControl Universal 1 : pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 : pour 2 x 3 ml
- Équipement habituel de laboratoire
- Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- Réf. 11662988, ProCell Elecsys, 6 x 380 ml, tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecsys, 6 x 380 ml, solution de nettoyage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829, Assay Cup Elecsys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou
- Réf. 11706802, Assay Cup Elecsys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799, Assay Tip Elecsys 2010, 30 x 120 embouts de pipette
- Équipement habituel de laboratoire

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170:

- Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampon système
 - Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l solution de lavage pour la cellule de mesure
 - Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et CleanCell M
 - Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/ embouts de pipettes, sacs pour déchets
 - Réf. 03023150, WasteLiner, sacs pour déchets
 - Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur pour SysClean M
- Pour les trois appareils:
- Réf. 11298500, SysClean Elecsys, 5 x 100 ml, solution de lavage avant la détection
- Disponible uniquement aux États-Unis:
- Réf. 11776665, FT4 CalCheck Elecsys à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

E170/Elecsys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Éviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Elecsys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Éviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer** et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

Calibration*

Le test FT4 Elecsys a été calibré selon le test Enzymun-Test FT4⁶ par rapport à la méthode par dialyse à l'équilibre.^{3,4}

Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions FT4 CalSet.

Fréquence de calibration : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré depuis au maximum 24 heures par l'appareil).

Une nouvelle calibration est recommandée pour :

E170/Elecsys 2010 :

- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010 :

- à chaque nouveau coffret
- après sept jours à une température ambiante de 20-25°C
- après trois jours à une température ambiante de 25-32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*

Utiliser PreciControl Universal 1 et 2 Elecsys ou d'autres sérums de contrôle appropriés. Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance.

Expression des résultats*

E170, Elecsys 1010 et 2010 calculent le taux de T4 libre de chaque échantillon.

Les résultats sont exprimés au choix en pmol/l, ng/l ou ng/dl.

Facteurs de conversion : $\text{pmol/l} \times 0,077688 = \text{ng/dl}$ ($\text{ng/dl} \times 0,77688 = \text{pmol/l}$)
 $\text{ng/dl} \times 12,872 = \text{pmol/l}$

Limites d'utilisation - Interférences**

La bilirubine (< 410 mg/l ou 41 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 2 g/dl), la lipémie (< 20 g/l ou 2000 mg/dl), la biotine < 100 ng/ml n'influencent pas le résultat.

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 339 U/ml.

Le dosage peut être réalisé sur des sérums de patients dialysés.

L'influence de 26 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : seul le furosémide conduit, aux doses thérapeutiques, à des taux de T4 libre par excès. Le test ne peut être utilisé chez les patients traités par des hypolipémiants contenant de la thyroxine; il faut interrompre préalablement ce traitement durant 4 à 6 semaines pour rétablir l'état physiologique avant le dosage de la T4 libre.⁷

Le coffret FT4 Elecsys n'a pas été testé sur des sérums de nouveau-nés.

Les autoanticorps présents dans certains sérums peuvent avoir une influence sur le résultat.

Les cas d'interactions immunologiques entre les composants du réactif et les constituants de certains sérums sont rares.

📖 Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-streptavidine et anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces risques sont toutefois minimisés dans le test FT4 Elecsys.

Pour le diagnostic, les résultats du test FT4 Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

Domaine de mesure**

0,300 – 100,0 pmol/l ou 0,23 – 77,7 ng/l ou 0,023 – 7,77 ng/dl (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,300 pmol/l ou < 0,23 ng/l ou < 0,023 ng/dl, les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 100,0 pmol/l ou > 77,7 ng/l ou > 7,77 ng/dl.

Dilution des échantillons

Les échantillons destinés au dosage de la T4 libre ne peuvent pas être dilués : toute modification de la concentration des protéines de transport par addition de diluant perturberait l'équilibre entre la forme libre de la T4 et la forme liée aux protéines.

Valeurs de référence**

Euthyroïdiens : 12–22 pmol/l ou 9,3–17 ng/l ou 0,93–1,7 ng/dl

Ces valeurs correspondent au 2,5^e ou au 97,5^e percentile et résultent d'une étude effectuée sur 801 sujets sains.

(Résultats d'une étude multicentrique sur les paramètres thyroïdiens (1^{er} trimestre 1998). Les domaines de référence pour le enfants sont disponibles sur demande et figurent dans le dossier Information-produit FT4 Elecsys.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir au besoin ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques**

Précision

Les résultats suivants ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards); précision intra-série sur E170 : n = 21.

Elecsys 1010/2010			Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	s		CV
	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%	pmol/l	ng/dl	%
Sérum humain 1	8,7	0,68	0,14	0,01	1,6	0,31	0,02	3,5
Sérum humain 2	21,1	1,64	0,35	0,03	1,7	0,71	0,06	3,3
Sérum humain 3	50,8	3,95	1,45	0,11	2,9	3,35	0,26	6,6
PreciControl U 1	17,5	1,36	0,25	0,02	1,4	0,48	0,04	2,7
PreciControl U 2	26,1	2,03	0,48	0,04	1,8	0,79	0,06	3,0

E170	Précision intra-série					Précision inter-série				
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	$\bar{x}$		s		CV
	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%	pmol/l	ng/dl	pmol/l	ng/dl	%
Sérum humain 1	9,15	0,71	0,12	0,01	1,4	14,9	1,16	0,40	0,03	2,7
Sérum humain 2	16,9	1,31	0,30	0,02	1,8	17,5	1,36	0,46	0,04	2,6
Sérum humain 3	34,2	2,66	0,68	0,05	2,0	35,9	2,79	1,29	0,10	3,6
PreciControl U 1	11,4	0,89	0,16	0,01	1,4	11,9	0,92	0,32	0,02	2,7
PreciControl U 2	41,6	3,23	0,58	0,05	1,4	42,7	3,32	2,06	0,16	4,8

Sensibilité (limite de détection analytique)

0,30 pmol/l ou 0,23 ng/l ou 0,023 ng/dl

La limite de détection correspond au taux le plus faible de T4 libre mesurable qui puisse être différencié de zéro.

Spécificité analytique

L'anticorps anti-T4 du coffret présente les réactions croisées suivantes:

L-T4 100%; D-T4 100%; L-T3 1,53%; D-T3 1,38%; iodo-3 L-tyrosine 0,002%; diiodo-3,5 L-tyrosine 0,01%; acide tétra-3,3',5,5'-iodothyro-acétique 38,5%.

Comparaison de méthodes*

Une comparaison entre le test FT4 Elecsys (y) sur appareil Elecsys et le test FT4 Enzymun-Test (x) sur des sérums de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes (en pmol/l) :

Nombre d'échantillons analysés : 314

Passing/Bablok⁸⁻¹⁰ Régression linéaire

$y = 0,39 + 1,03x$ $y = 0,63 + 1,01x$

$r = 0,99$ $r = 0,99$

$s(\text{md}68) = 0,518$ $Sy.x = 0,836$

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 2 pmol/l (1,6 ng/l ou 0,16 ng/dl) et 81 pmol/l (63 ng/l ou 6,3 ng/dl).

Bibliographie

- 1 Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. Londres, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman et Hall, 1994;107–115.
- 2 Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsanstalt GmbH 1991, 2^e édition; p. 43–62,72–89.
- 3 Ekins RP. Measurement of free hormones in blood. Endocr Rev 1990;11:5.
- 4 Ekins RP, Ellis SM. The radioimmunoassay of free thyroid hormones in serum. In Robbins J, Braverman LE (édit.). Thyroid research, Proceedings of the Seventh International Thyroid Conference, Boston. Amsterdam, Excerpta Medica 1975;597
- 5 Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3^e édition. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co 1995:596.
- 6 Documentation de Roche.
- 7 Bantle JP, Hunninghake DB, Frantz ID, Kuba K, Mariash CN, Oppenheimer JH. Comparison of Effectiveness of Thyrotropin-Suppressive Doses of D-and L-Thyroxine in Treatment of Hypercholesterolemia. Am J Med 1984;3:475–481.
- 8 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 9 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431–445.
- 10 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170, au dossier Information-produit FT4 Elecsys et à la notice d'utilisation des réactifs FT4 CalSet et PreciControl Universal.

📖 = Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.

© 2001 Roche Diagnostics

